

安定性を損なうことなく
真の高分離分析を実現します



Agilent ZORBAX 超高速高分離ラピッドレゾリューション High Definition (RRHD) カラム

ZORBAX RRHD カラムは次の特長により、高速高分離分析のパフォーマンスをさらに引き上げます。

- **優れた柔軟性** : 分離の効率や品質を落とさずに、流量をカラムの限界まで上げることができます。
- **1200 bar までの安定性** : Agilent 1290 Infinity LC など UHPLC 機器での安定した使用が可能です。
- **最大の分離能** : 1.8 µm の粒子により安定した高分離能分析と拡張性が実現し、3.5 µm と 5 µm の粒子とのメソッド変換が容易です。
- **より信頼性の高い化合物同定** : 高分離のクロマトグラムと内径 2.1 mm のカラムにより MS の分離能を強化します。
- **幅広い選択が可能な結合相** : アジレントの ZORBAX および Poroshell 120 ファミリを組み合わせることで、さまざまなサンプルへの対応とメソッド変換が容易になります。
 - **ZORBAX SB-C18** : さまざまな選択性を備え、pH 1~2 における安定性を強化
 - **ZORBAX RRHD 300Å** : AdvanceBio カラムファミリの 1 つで、インタクトプロテインおよびペプチド分析用のカラム
 - **ZORBAX Eclipse Plus** : 酸性、塩基性、中性化合物いずれの分析においても卓越した対称ピーク形状を提供



詳しくは、

www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。



多くの結合相を揃え、 さまざまな分析に柔軟に対応します

ZORBAX RRHD カラムには 12 種類以上の結合相に加えて HILIC が用意されているため、分析のニーズに応じて最適なカラムを選択することができます。

ほとんどのアプリケーションには、最初の選択肢として Eclipse Plus C18 カラムをお勧めします。これは、このカラムが pH 2~9 の広い pH 範囲で高い性能と優れたピーク形状を提供するからです。その他にも次のような結合相があります。

- C18 結合相とは異なる選択性で分離を最適化する**フェニルおよびシアノカラム**
- 主に LC/MS 分析を行う高極性化合物分析用 **HILIC カラム**
- 極性化合物の分析用 **Bonus-RP**

条件

A : 0.1 % ギ酸水溶液 (30 %)

B : 0.1 % ギ酸アセトニトリル溶液 (70 %)

流量 : 1 mL/min、アイソクラティック

サンプル : 1 μ L

温度 : 30 °C

MS2 スキャン : 290~390、ESI ポジティブモード、

スキャン時間 : 500、フラグメンタ : 135 V、

乾燥ガス : 12 L/min、325 °C、

ネブライザ圧力 : 35 psig、

キャピラリー電圧 : 3000

» AEA、348 m/z

» PEA、300 m/z

» 2-AG、379 m/z*

» OEA、326 m/z

* 質量 379 の 5 番目のピークも検出されました。

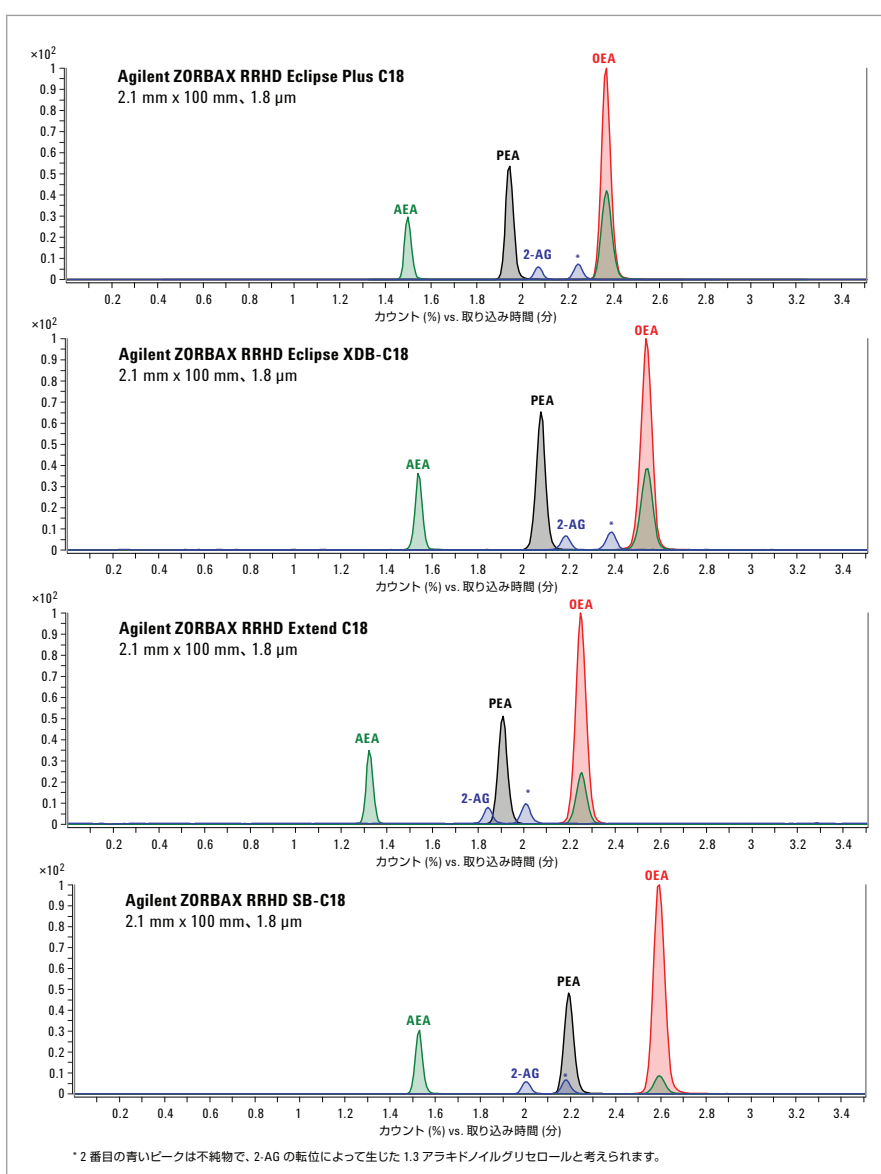
この不純物は、2-AG の転位によって生じた 1,3 アラキドノイルグリセロールと考えられます。

サンプル

1. アナンダミド (AEA)
2. パルミトイルエタノールアミド (PEA)
3. 2-アラキドノイルグリセロール (2-AG)
4. オレオイルエタノールアミド (OEA)

選択性の比較 : C18 カラム

選択性の違いは、結合の種類、エンドキャップ、シリカ上のシラノールまたはシリカの量や種類など、わずかではありますが重要な差異によって生じます。選択性に影響を与えるその他の要素として、移動相の組成、温度、pH などがあります(これらの要素が次の例では同一であることに注意してください)。



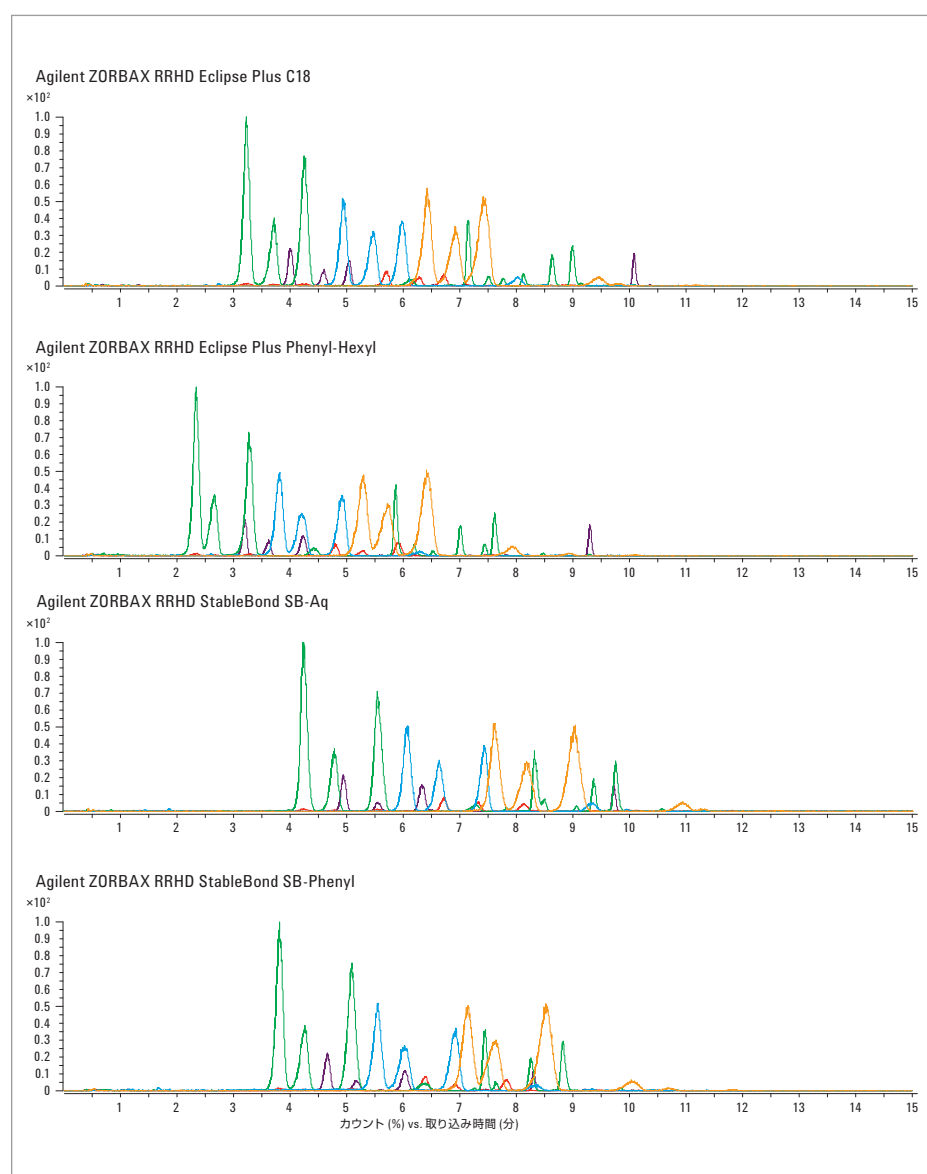
内在性カンナビノイド分析メソッドを使用して、4 つの Agilent ZORBAX RRHD C18 カラムの選択性を比較しました。詳細については、アジレント資料番号 5990-7166EN (英語版) を参照してください。

選択性の比較 : Phenyl カラム

現在 ZORBAX RRHD カラムでは、Eclipse Plus Phenyl-Hexyl と SB-Phenyl という 2 つのフェニルカラムを提供しています。

いずれも共役アントシアニンの分析に優れた性能を発揮します。これは、アントシアニンの二重結合に存在する π 電子が、フェニル固定相の π 電子と相互作用を起こすからです。これが、C18 などの従来のアルキル相と比べて独自の選択性メカニズムとなります。

π - π 相互作用はアルキル相への保持も引き起こしますが、密接な関連がある共役化合物を分析する場合は、フェニルカラムの方がわずかに高い選択性を持っています。次に示す EIC は、5 つの異なるアントシアニン (それぞれを色分けして表示) の個別のグリコシドとアシルグリコシドを明確に示しています。このメタノール/ギ酸グラジエントでは、Eclipse Plus Phenyl-Hexyl カラムは、他の 3 つの相よりも多いアントシアニンピークを分離します。



条件

A : 5 % ギ酸水溶液
B : CH₃CN
0.65 mL/min
10~50 % B で 15 分間
ブルーベリーを 5 μ L 注入
TCC : 30 °C
MS2 スキャン、ESI +、200~1000
シアニン、m/z 286
ペオニン、m/z 300
デルフィニン、m/z 302
ペチュニン、m/z 316
マルビジン、m/z 330

LC/MS スキャンデータから抽出したブルーベリーアントシアニンのイオンクロマトグラム。
詳細については、アジレント資料番号 5990-8470EN (英語版) を参照してください。

詳しくはホームページ www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

タンパク質およびペプチド分析を新たなレベルに

ワイドポア ZORBAX RRHD 300SB-C18、-C8、-C3、300-Diphenyl、および 300-HILIC 1.8 μm カラムは、インタクトタンパク質およびペプチド分解物の逆相分離に威力を発揮します。アジレントの 1290 Infinity LC などの UHPLC 機器をこれらの多機能カラムと組み合わせると、高度な特性解析が可能になり、さらに分析時間が短縮されます。ZORBAX StableBond 技術 (C18、C8、C3) には次のような利点があります。

- **低 pH での安定性。**トリフルオロ酢酸 (TFA) やギ酸溶離液を使用し、pH 1 までの低い pH においてもタンパク質とペプチドの信頼性の高い分離ができます。
- **80 °C までの温度安定性。**カラム寿命を下げることなく、高温での分離が可能になります。この結果、効率を向上させ、溶離液の粘度を下げるすることができます。

ジフェニル相は、以前は 100Å Pursuit XRs および 200Å Pursuit カラムだけで提供されていた独自の相です。この実績のある結合技術を ZORBAX 300Å 1.8 μm 粒子に適応することで、TFA およびギ酸移動相を使用したタンパク質の分離にこの独自の選択性を活用できるようになりました。HILIC での極性糖ペプチドの高速高分離分析にも使用できます。

長いカラム寿命

200 回にわたる再現性テストにおいてもカラム性能の一貫性が維持されます。カラム圧力の上昇や性能の低下はありません。

流量 (mL)	分析番号	圧力 (bar)	リテンションタイム (分)	テーリング係数 (5 %)	段数
1	1	680~520	1.789	1.08	9258
1	50	680~520	1.790	1.06	9241
1	100	680~520	1.788	1.07	9252
1	200	680~520	1.789	1.10	9305

200 回の再現性テスト実施時に特定間隔で測定した Agilent ZORBAX 300SB-C18 の性能

分離速度の向上

ZORBAX RRHD 300SB-C18 カラムには 1.8 μm の粒子が充填されているため、低分子 UHPLC と同様に高い流量でも性能を維持することができます。

流量 (mL)	圧力 (bar)	リテンションタイム (分)	テーリング係数 (5 %)	段数
0.3	230~150	2.39	1.47	8855
0.5	350~250	2.04	1.27	9226
1.0	680~520	1.78	1.09	8980
1.5	890~670	1.72	1.13	8912

流量の関数としての Agilent ZORBAX 300SB-C18 カラムの性能。
流量が上昇すると、最小限の効率の低下でピークの対称性が向上します。

未処理タンパク質の回収率の向上

一般に、カラムが短くなるとインタクトタンパク質の回収率は向上します。これは、カラムから溶離するまでの距離が短くなるからです。C18 リガンドは、ペプチドとタンパク質の分離で使用する最も疎水性の高いアルキル鎖であるため、小さい球状のインタクトタンパク質の分析に適しています。図 1 の分離は、5,800 ダルトンという小さいタンパク質であるインスリンの分析を示しています。

ペプチドフラグメントの分離能の向上

ペプチドマッピングアプリケーションには長いカラムが最適です。これは、タンパク質酵素分解物からのペプチドフラグメントの分離能が上昇するからです。

図 2 に示す分離では、1.8 μm 粒子の高い効率により、個々のペプチドフラグメントの分離能が上昇し、アミノ酸の翻訳後修飾の迅速な同定が可能になります。

モノクローナル抗体の分離能と回収率の向上

モノクローナル抗体などの大きいタンパク質では、短い、疎水性の低い C8、C3、ジフェニル官能基によって分離能と回収率が向上します。

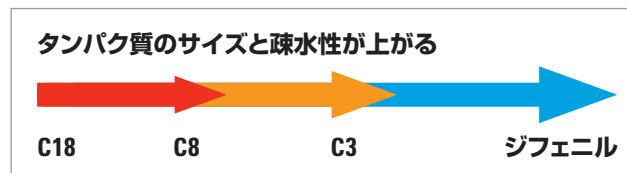


図 3 に、150 回注入を行った後の ZORBAX RRHD カラムの卓越した再現性と寿命を示します。リテンションタイムやピークの異常は見られません。下のクロマトグラムは、150 回の注入を行う前後のブランク分析とグラジエント圧力曲線を示しています。ゴーストや圧力の上昇が見られないことを確認できます。

図 4 では、大きい重鎖が軽鎖よりも長く保持され、C3 とジフェニルカラムのいずれによっても 2 つの重鎖が分離されます。ただし、この特定のモノクローナル抗体では、より保持力の強いジフェニル相が 2 つの重鎖のベースライン分離を提供し、定量の再現性を向上しています。

RRHD バイオカラムの詳細については、アジレント資料番号 5990-8124JAJP をダウンロードしてください。

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μ m
 サンプル: インスリン、インスリン鎖 A および鎖 B、
 酸化 (ウシ - Sigma, 1 mg/mL)
 注入量: 2 μ L
 流量: 1.0 mL/min
 移動相 A: 0.1 % TFA
 移動相 B: 0.01 % TFA + 80 % ACN
 分析時間: 8 分間
 グラジエント: 33~50 % 移動相 B、0~4 分
 検出: 1290 Infinity LC (280 nm)

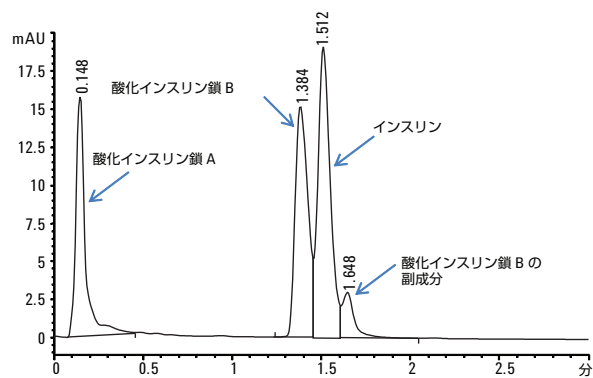


図 1. 酸化インスリン鎖は 2 分未満で分離されています

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 100 mm, 1.8 μ m
 サンプル: タンパク質酵素消化物 (MAB)
 注入量: 5 μ L
 流量: 0.5 mL/min
 温度: 50 $^{\circ}$ C
 移動相 A: 0.1 % TFA
 移動相 B: 0.01 % TFA + 80 % ACN
 グラジエント: 1 分間 2 % B、8.8 分間で 2~45 %、
 0.2 分間で 45~95 % B、2 分間 95 % B、
 0.2 分間で 95~2 %
 検出: 1290 Infinity LC (280 nm)

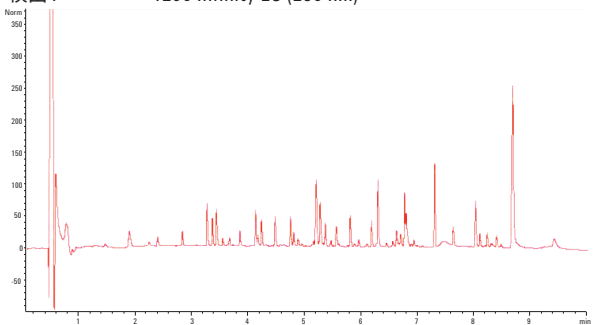


図 2. 長い 100 mm Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 カラムは、タンパク質分解物に最大の分解能を提供します。このサンプルでは、洗浄と平衡化を含む分析時間の合計は **15 分未満**でした。

ZORBAX RRHD 300Å 1.8 μ m カラムは AdvanceBio
 カラムファミリの 1 つで、分析速度を上げ、ラボを効率化
 するように設計されています。このカラムファミリに
 ついては、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C8 2.1 x 50 mm, 1.8 μ m
 サンプル: MAB
 流量: 1.0 mL/min
 温度: 80 $^{\circ}$ C
 移動相 A: H₂O : IPA (98 : 2)、0.1 % TFA
 移動相 B: IPA : ACN : H₂O (70 : 20 : 10)、
 0.1 % TFA
 検出: 1290 Infinity LC (225 nm)

グラジエントのタイムスケール

時間 (分)	% 溶媒 B
0.00	25
3.00	35
4.00	90
5.00	25

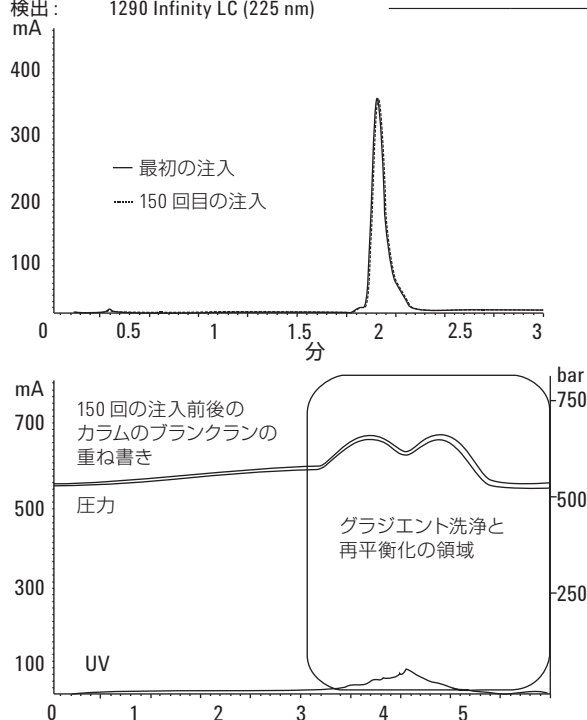


図 3. Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8 の優れた再現性とタンパク質回収率

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C3 および
 300-Diphenyl, 2.1 x 100 mm, 1.8 μ m
 サンプル: 還元モノクローナル抗体 (IgG1) (1.0 mg/mL)
 サンプル注入量: 2 μ L
 移動相 A: 0.1 % TFA 水溶液
 移動相 B: 80 % n-プロピルアルコール、10 % ACN、
 9.9 % 水および 0.1 % TFA
 グラジエント: 0 分 - 1 % B、2 分 - 20 % B、5 分 - 50 % B
 流量: 0.5 mL/min
 温度: 74 $^{\circ}$ C
 検出: UV280

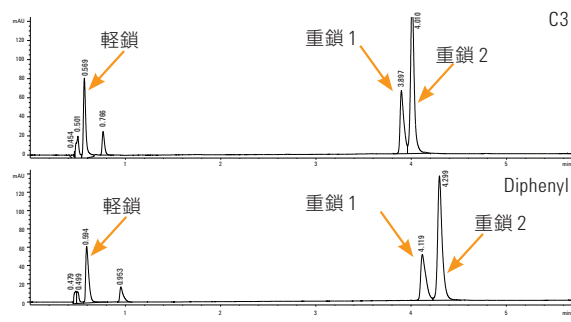


図 4. 還元およびアルキル化後のモノクローナル抗体の軽鎖と重鎖の分離

詳しくはホームページ www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

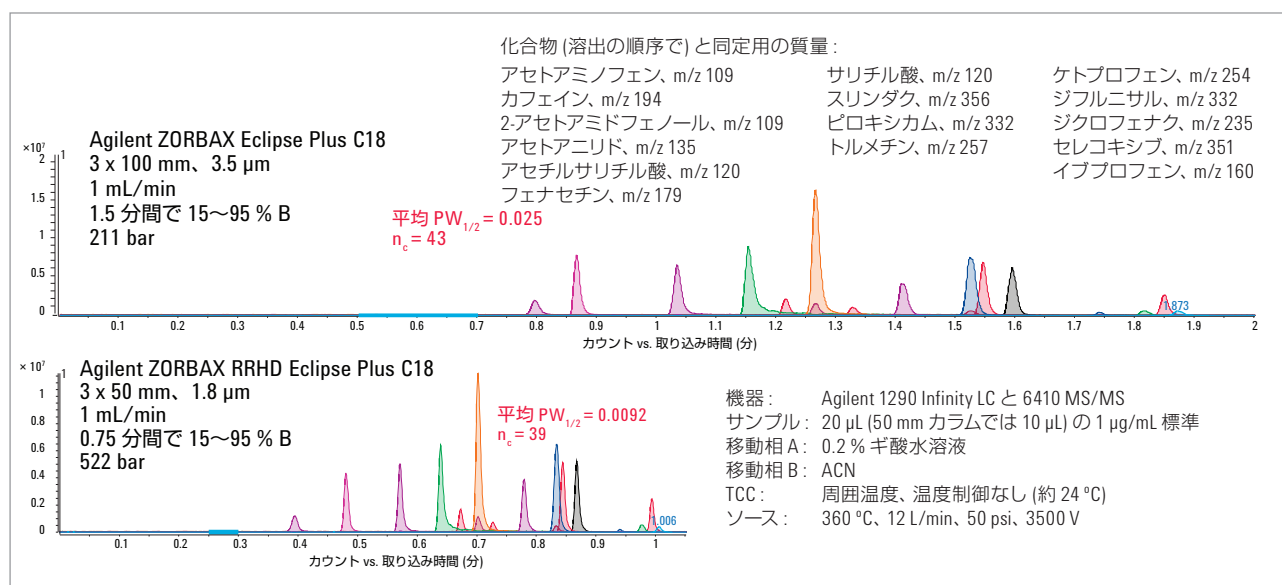
UHPLC システムの能力を最大限に活用

高い拡張性とメソッド変換

ZORBAX RRHD カラムを使用すると、ZORBAX ラピッドレゾリューションハイスループット (RRHT) 1.8 μm 、ラピッドレゾリューション 3.5 μm および 5 μm カラムで同じ結合相を使ったときと同じレベルの選択性を達成することができます。

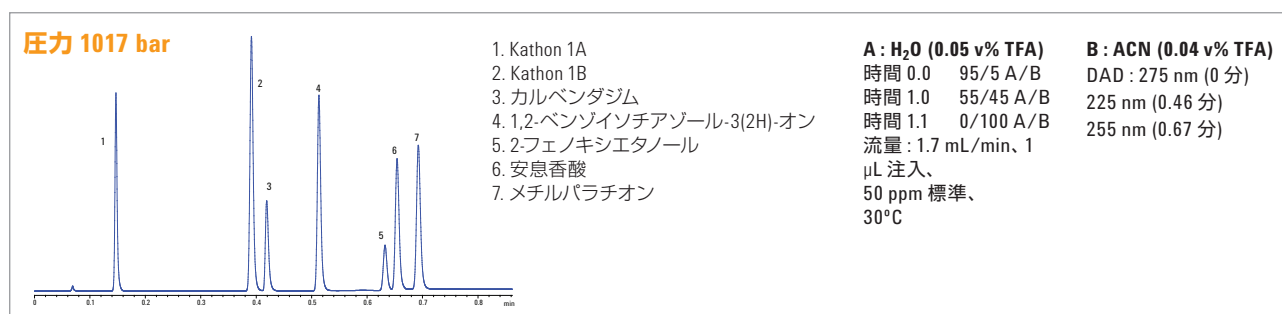
新しいレベルの感度と分離能

Agilent RRHD カラムにメソッドを変換すると、分離能を向上できるため、分離を低下させることなく、短いカラムを使用して分析時間を短縮することができます。



Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラムと RRHD Eclipse Plus C18 カラムの比較。カラムボリュームに従ってグラジエントメソッドを拡張することで、メソッド変換時の選択性を保持します。RRHD カラムは性能を下げることなく分析時間を短縮します。

ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm カラムでの 7 種類の殺菌剤の分離 (0.7 分間)



この例では、Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラムを使用して 7 種類の殺菌剤を分離しました。1 分未満で高分離能の結果が得られました。詳細と 2 つの比較メソッドについては、アジレント資料番号 5990-4899EN (英語版) を参照してください。

超高耐圧 ZORBAX ラピッドレゾリューション High Definition (RRHD) カラム一覧

(価格は税別)

	Eclipse Plus C18 (USP L1)	Eclipse Plus C8 (USP L7)	Eclipse XDB-C18 (USP L1)	Extend-C18 (USP L1)	Eclipse PAH (USP L1)	Eclipse Plus Phenyl-Hexyl	Bonus RP
RRHD 2.1 x 150 mm, 1.8 µm	959759-902 ¥87,000	959759-906 ¥87,000	981759-902 ¥87,000	759700-902 ¥87,000	959759-918 ¥87,000	959759-912 ¥87,000	859768-901 ¥87,000
RRHD 2.1 x 100 mm, 1.8 µm	959758-902 ¥74,000	959758-906 ¥74,000	981758-902 ¥74,000	758700-902 ¥74,000	959758-918 ¥74,000	959758-912 ¥74,000	858768-901 ¥74,000
RRHD 2.1 x 50 mm, 1.8 µm	959757-902 ¥66,000	959757-906 ¥66,000	981757-902 ¥66,000	757700-902 ¥66,000	959757-918 ¥68,000	959757-912 ¥68,000	857768-901 ¥68,000
RRHD 3.0 x 150 mm, 1.8 µm	959759-302 ¥87,000	959759-306 ¥87,000	981759-302 ¥87,000				
RRHD 3.0 x 100 mm, 1.8 µm	959758-302 ¥74,000	959758-306 ¥74,000	981758-302 ¥74,000	758700-302 ¥74,000	959758-318 ¥74,000	959758-312 ¥74,000	
RRHD 3.0 x 50 mm, 1.8 µm	959757-302 ¥66,000	959757-306 ¥66,000	981757-302 ¥66,000	757700-302 ¥66,000	959757-318 ¥68,000	959757-312 ¥68,000	

	StableBond SB-C18 (USP L1)	StableBond SB-C8 (USP L7)	StableBond SB-Phenyl (USP L11)	StableBond SB-CN (USP L10)	StableBond SB-Aq	HILIC Plus
RRHD 2.1 x 150 mm, 1.8 µm	859700-902 ¥87,000	859700-906 ¥87,000	859700-912 ¥87,000	859700-905 ¥87,000	859700-914 ¥87,000	959759-901 ¥87,000
RRHD 2.1 x 100 mm, 1.8 µm	858700-902 ¥74,000	858700-906 ¥74,000	858700-912 ¥74,000	858700-905 ¥74,000	858700-914 ¥74,000	959758-901 ¥74,000
RRHD 2.1 x 50 mm, 1.8 µm	857700-902 ¥66,000	857700-906 ¥66,000	857700-912 ¥68,000	857700-905 ¥68,000	857700-914 ¥68,000	959757-901 ¥68,000
RRHD 3.0 x 150 mm, 1.8 µm	859700-302 ¥87,000	859700-306 ¥87,000				
RRHD 3.0 x 100 mm, 1.8 µm	858700-302 ¥74,000	858700-306 ¥74,000	858700-312 ¥74,000	858700-305 ¥74,000	858700-314 ¥74,000	959758-301 ¥74,000
RRHD 3.0 x 50 mm, 1.8 µm	857700-302 ¥66,000	857700-306 ¥66,000	857700-312 ¥68,000	857700-305 ¥68,000	857700-314 ¥68,000	959757-301 ¥68,000

タンパク質およびペプチド分離用ワイドポア ZORBAX RRHD カラム一覧

	StableBond 300SB-C18	StableBond 300SB-C8	StableBond 300SB-C3	300- Diphenyl	300- HILIC
RRHD 2.1 x 100 mm, 1.8 µm	858750-902 ¥82,000	858750-906 ¥82,000	858750-909 ¥82,000	858750-944 ¥82,000	858750-901 ¥82,000
RRHD 2.1 x 50 mm, 1.8 µm	857750-902 ¥75,000	857750-906 ¥75,000	857750-909 ¥75,000	857750-944 ¥75,000	857750-901 ¥75,000



ZORBAX RRHD 300-HILIC の詳細については、アジレント資料番号 5991-1435EN (英語版) を参照してください。

詳しくはホームページ www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

ZORBAX RRHD カラムの仕様

結合相	ポアサイズ	表面積	pH 範囲	エンドキャップ
ZORBAX Eclipse Plus C18	95 Å	160 m ² /g	2.0-9.0	ダブル
ZORBAX Eclipse Plus C8	95 Å	160 m ² /g	2.0-9.0	ダブル
ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl	95 Å	160 m ² /g	2.0-9.0	ダブル
ZORBAX Eclipse XDB-C18	80 Å	180 m ² /g	2.0-9.0	ダブル
ZORBAX Extend-C18	80 Å	180 m ² /g	2.0-11.5 [†]	ダブル
ZORBAX Bonus RP	80 Å	180 m ² /g	2.0-9.0	トリプル
ZORBAX StableBond SB-C18	80 Å	180 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX StableBond SB-C8	80 Å	180 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX StableBond SB-Phenyl	80 Å	180 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX StableBond SB-CN	80 Å	180 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX StableBond SB-Aq	80 Å	180 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX Eclipse PAH	95 Å	160 m ² /g	2.0-8.0	なし
ZORBAX HILIC Plus	95 Å	160 m ² /g	0.0-8.0	なし

タンパク質およびペプチド向け BioHPLC カラム

ZORBAX StableBond 300SB-C8	300 Å	45 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX StableBond 300SB-C18	300 Å	45 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX StableBond 300SB-C3	300 Å	45 m ² /g	1.0-8.0*	なし
ZORBAX 300-Diphenyl	300 Å	45 m ² /g	1.0-8.0	あり
ZORBAX 300-HILIC	300 Å	45 m ² /g	1.0-8.0	なし

*StableBond カラムは低い pH で最適に使用できるように設計されています。pH 6 を超える分析条件において、すべてのシリカ系カラムについて最大のカラム安定性を得るためには、40 °C 未満の動作温度と、10~20 mM の低濃度の緩衝液または有機緩衝液を推奨します。300SB-C18 は 90 °C までの使用が可能です。pH 6~8 では Eclipse Plus C18 カラムを選択してください。

[†]温度上限は、pH 8 までは 60 °C、pH 8~11.5 では 40 °C です。

アジレントのケミストリ :

高い品質が分析の成功を導きます

アジレントは、低分子、高分子、および合成ポリマー分析のほとんどの手法に適したカラムを設計し、製造しているため、従来の 5 µm から高速 LC 分析用のサブ 2 µm カラムまでメソッドの拡張が可能です。

また、より迅速なメソッド開発のためのアジレントの幅広いアプリケーションライブラリに加え、世界に広がる技術サポート、すばやい問題解決、世界規模のインフラストラクチャおよび配送ネットワークを利用することができます。

また、アジレントのきめ細かい製造工程管理システムにより、カラムの一貫性と性能が保証されます。ポリマーおよびシリカ系充填剤の製造において 40 年を超える経験を持つアジレントのチームは、ラボの生産性をさらに向上させる先進的な新しいカラムの開発を絶えず続けています。



詳細情報

ホームページ www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ **0120-477-111**

最高の性能を実現するには、アジレントのランプとキャピラリーをご使用ください。

Infinity シリーズの消耗品をはじめ、アジレントの高性能消耗品を掲載した総合カタログ (資料番号 5991-1055JAJP) を用意しております。

ご請求はカスタムコンタクトセンタまでお知らせください。

本書に記載の情報は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2013

Printed in Japan, February 22, 2013

5990-9214JAJP



Agilent Technologies